Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu. (2009) 10(2), 129-140

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Respuesta fotosintética de diferentes ecotipos de fríjol a la radiación y la salinidad

Photosynthetic response of different common bean ecotypes to radiation and salinity

Carolina Jaramillo Giraldo[1], Marco Antonio Oliva Cano[2], Rogério Ferreira Ribas[3]

ABSTRACT

The effect of radiation and salinity on photosynthesis of different ecogeographical types of *Phaseolus vulgaris* 'Cargamanto' (South American Andean) and 'Carioca' (Mesoamerican) were studied. Osmotic potential, sodium accumulation, parameters gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence and pigments contents were determined in the leaves to bean cultivated in experiment greenhouse using nutrient solution. The covering the seedlings with a polyethylene mesh that blocks the passage of the photosynthetically active radiation (PAR) by 50% the light treatment consisted. Subsequently, the plants exposed (E) on the radiation of the greenhouse and shade plants (S) were subjected to increasing doses of 30 mM sodium chloride (NaCl) to reach concentrations of 30, 60, 90, 120 mm and other plants kept as a control treatment. Were altered the photosynthesis by the stress by NaCl and light, but the ecotype Andean presented a greater capacity to adjust to different abiotic stress factors in relation to the Mesoamerican ecotype. E and S plants showed significant differences in the parameters of gas exchange, osmotic potential and sodium concentration on conditions salinity, but E and with stress by NaCl were more contrasting variations in relation to the S. The interaction of shade and salinity presented unique responses compared with the altered produced by each factor evaluated independently.

Keywords: Phaseolus vulgaris, photosynthesis, luminescence, salt stress, light stress.

RESUMEN

Con la finalidad de conocer el efecto de la radiación y la salinidad sobre la fotosíntesis de diferentes tipos ecogeográficos de *Phaseolus vulgaris* 'cargamanto' (andino suramericano) y 'carioca' (mesoamericano), se realizaron mediciones de potencial osmótico, acumulación de sodio, intercambio gaseoso, fluorescencia de la clorofila y contenido de pigmentos en hojas de fríjol cultivadas en condiciones de invernadero con solución nutritiva. El tratamiento lumínico consistió en cubrir las plántulas con una malla de polietileno que obstruye el paso de la radiación fotosintéticamente activa en 50%. Posteriormente, las plantas expuestas a las condiciones de radiación del invernadero y las plantas con sombra se sometieron a dosis crecientes de 30 mM de cloruro de sodio hasta llegar a las concentraciones de 30, 60, 90 y 120 mM, y otras quedaron como tratamiento control. El estrés salino y lumínico alteró la fotosíntesis, pero el ecotipo andino presentó una capacidad de ajuste mayor a los diferentes factores y al estrés abiótico en relación con el ecotipo mesoamericano. Las plantas expuestas y con sombra presentaron diferencias significativas en los parámetros de intercambio gaseoso, potencial osmótico y concentración de sodio en las hojas, en condiciones de estrés salino; pero en las plantas expuestas y estresadas con NaCl, las variaciones fueron más contrastantes en relación con las que se hallaban bajo sombra. La interacción de la sombra con la salinidad presentó respuestas únicas y diferenciales en comparación con las alteraciones producidas por cada factor evaluado independientemente.

Palabras claves: Phaseolus vulgaris, fotosíntesis, luminiscencia, estrés salino, estrés lumínico.

INTRODUCCIÓN

El estrés salino ocurre por la altas concentraciones de sodio (Na^+) y cloro (Cl^-) en la solución nutritiva (Hasegawa *et al*., 2002; Parida y Das, 2005). Se presenta naturalmente en regiones secas y caracterizadas por precipitaciones bajas y tasas de evaporación altas (Meloni, 2003).

El estrés salino induce serias alteraciones en el metabolismo de la planta, que repercuten en el crecimiento y desarrollo (Hasegawa *et al*., 2002; Munns, 2002). El proceso

Radicado: 20 de agosto de 2009
Aprobado: 24 de septiembre de 2009

[1] Magíster en Fisiología vegetal, investigadora máster asistente. Estación Experimental La Suiza, Corpoica, Bucaramanga. cjaramillog@corpoica.org.co
[2] Ph.D. Profesor do Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. moliva@ufv.com.br
[3] Ph.D. Profesor do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Bahia. ribas@ufrb.edu.br

© 2009 Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria

fotosintético es afectado principalmente en su fase carboxilativa. El déficit hídrico, ocasionado por el estrés salino debido al efecto osmótico y denominado mecanismo no específico de la sal, se torna en uno de los factores que reducen la tasa de fijación de dióxido de carbono (CO_2) (Surdhir y Murthy, 2004; Parida y Das 2005). Además, el mecanismo específico de la sal o la acumulación de iones como Na^+ y Cl^- en el citoplasma modifica la estructura y el funcionamiento de los cloroplastos, llevando a la inactivación de enzimas expuesta inhibiendo parcialmente el ciclo de Calvin (Steduto *et al*., 2000; Parida *et al*., 2003).

Los dos mecanismos de respuesta al estrés salino mencionados anteriormente pueden afectar las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis, posiblemente por la ineficiencia en el proceso carboxilativo, las alteraciones en la síntesis de los pigmentos fotosintéticos en especial la clorofila "*a*" y por la degradación de algunos polipéptidos que se encuentran adheridos a los tilacoides (Hernández *et al*., 1995; Parida *et al*., 2003).

La producción agrícola normalmente está sometida a la combinación simultánea de varias condiciones de estrés. Plantas expuestas a un solo tipo de estrés, sea hídrico, salino o lumínico, presentan respuestas particulares y únicas en la fotosíntesis, conductividad estomática, respiración, temperatura foliar y señalización bioquímica (Rizhsky *et al*., 2002; Mittler, 2006); estas respuestas pueden ser sinérgicas o antagónicas, cuando las plantas son expuestas a dos tipos de estrés simultáneamente. Lo anterior se ha demostrado y discutido en estudios realizados con tabaco, combinando dos condiciones de estrés: altas temperaturas y sequía (Rishsky *et al*., 2002), o con plantas de acebo (*Ilex aquifolium*) en condiciones de estrés por sombra y sequía (Valladares *et al*., 2004).

En las regiones de altura de la cordillera andina, las plantas pueden experimentar cambios rápidos y fluctuantes en la radiación en un lapso corto (Kumar *et al*., 2007). El exceso de absorción de energía puede evitarse mediante diferentes mecanismos de escape como los movimientos de las hojas, las células o de los cloroplastos, o evadirse por los mecanismos de fotoprotección de la fotosíntesis. Por lo general, estos mecanismos de regulación se relacionan con los complejos procesos de adaptación genética y climatización fenotípica de las plantas cuando crecen en ambientes con variaciones en la radiación (Niyogy, 1999).

Si la energía de excitación no es regulada satisfactoriamente mediante los mecanismos de escape o de fotoprotección, puede ocurrir un proceso comúnmente conocido como fotoinhibición (Niyogy, 1999), que es el conjunto de procesos moleculares complejos causados por el exceso de radiación y que disminuyen la eficiencia y/o tasa máxima de fotosíntesis y conlleva daños fotooxidativos (Long *et al*. 1994; Niyogy, 1999).

El fríjol común (*Phaseolus vulgaris*) es uno de los componentes más importantes en la alimentación humana por su alto contenido de proteína vegetal, minerales y vitaminas que presentan sus semillas. En el continente americano, el cultivo del fríjol se encuentra distribuido en las regiones tropicales y subtropicales, desde los 52° latitud norte hasta los 32° latitud sur, desde el nivel del mar hasta 3000 m de altura (Cardona *et al*., 1995).

El centro de domesticación de *P. vulgaris* se encuentra en diferentes regiones de América Central y del Sur, lo que representa una gran diversidad en cuanto a sus características y comportamiento frente a las condiciones ambientales y de manejo (Chacón *et al*., 2005).

Según la morfología de la planta, la distribución ecológica-geográfica y la información de isoenzimas y molecular de los diferentes tipos de fríjol común, se ha clasificado en dos tipos ecogeográficos: andino y mesoamericano (Singh *et al*., 1991; Chacón *et al*., 2005). El tipo cargamanto, considerado andino, es un fríjol de crecimiento indeterminado adaptado a condiciones del clima frío, y que se siembra en alturas que oscilan entre los 1800 y 2500 msnm (Arias *et al*., 2007). El tipo carioca, considerado mesoamericano, es un fríjol determinado y se cultiva en las regiones bajas de Latinoamérica (Borem, 2005).

Luächli (1984) (citado por Bayuelo-Jiménez, 2002) indica que el fríjol común es sensible a la salinidad debido a que reduce su rendimiento (> 50%) a una conductividad eléctrica (CE) de saturación del extracto del suelo ≥ a 2 dSm/m, equivalente a 20 mM NaCl. En varios estudios (Bayuelo-Jiménez *et al*., 2002; Lizana *et al*., 2006; Hadi *et al*., 2006) se han identificado diferentes accesiones de especies cultivadas y silvestres del género *Phaseolus* que presentan características de tolerancia al estrés abiótico; Bayuelo-Jiménez y colaboradores (2002) y Lizana y colaboradores (2006) encontraron que el *Phaseolus* presenta una sustancial diversidad para tolerar la salinidad y deficiencia hídrica; por su parte, Hadi y colaboradores (2006) dice que *Phaseolus* también presenta un alto grado de compensación a los cambios en la radiación fotosintéticamente activa.

El estudio del fríjol originario de regiones andinas podrá presentar respuestas particulares y diferenciales cuando es sometido a condición de estrés abiótico comparado con el fríjol de origen mesoamericano. Con este trabajo se pretende evaluar los diferentes efectos independientes de la salinidad y la radiación sobre la asimilación de CO_2, fluorescencia de la clorofila *a* en diferentes tipos de fríjol carioca mesoamericano y cargamanto andino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y las condiciones de crecimiento

Se utilizaron semillas comerciales de fríjol tipo carioca y cargamanto suministradas por el Centro Nacional de Investigación de Arroz y Fríjol (CNPAF, Embrapa). Las semillas fueron germinadas en substrato de arena lavada y desinfectada.

Cuando las plántulas presentaron la primera hoja cotiledonal y la raíz alcanzó una longitud de 50-75 mm, fueron transferidas a tanques aireados (volumen de 2500 mL), los cuales contenían la solución nutritiva (Ruiz, 1997).

La composición de la solución en mmol/L fue de 1 KNO_3; 0,1 $MgSO_4$; 0,85 Ca $(NO_3)_2$; 0,39 $NH_4H_2PO_4$; 1 Fe-EDTA y 1 mL/L de la mezcla de los siguientes micronutrientes: (2,86 g H_3BO_3; 1,81 g $MnCl_2.4H_2O$; 0,08 g $CuSO_4$; 0,22 g $ZnSO_4$ y 0,02 g MoO_3). El pH de la solución se ajustó diariamente entre 6 y 6,5 con una solución amortiguadora KOH 1N.

Los experimentos se realizaron en condiciones de invernadero en la Unidad de Crecimiento de Plantas (UCP) de la Universidad Federal de Viçosa, Minas Gerais, en los meses de marzo y abril del 2007. La temperatura promedio fue de 34 ± 3 °C y la humedad relativa varió entre 60% y 70%.

El diseño experimental utilizado fue en bloques completos al azar, en arreglo factorial con tres repeticiones. El experimento evaluó diferentes ecotipos denominados factor experimental A. El factor B correspondió a las intensidades lumínicas y el factor C, a salinidad.

El factor A lo conformaron dos niveles: A1 carioca y A2 cargamanto; el factor B se constituyó por B1 (expuestas) y B2 (con sombra). El factor C estaba compuesto por cinco concentraciones (mM) de cloruro de sodio (NaCl): C1 (0), C2 (30), C3 (60), C4 (90) y C5 (120).

Tratamientos lumínicos y salinos

Cuando la primera hoja trifoliada comenzó a emerger, se aplicó el tratamiento lumínico que para carioca fue a los 5 días después de emergencia (DDE) y para cargamanto a los 7 DDE. El tratamiento consistió en cubrir las plántulas con una malla de polietileno que obstruye el paso de la radiación fotosintéticamente activa o PAR (photosynthetically active radiation) en 50%. En promedio, las plantas expuestas a las condiciones de radiación del invernadero y las plantas con sombra llegaron a recibir al medio día una PAR de 1600 ± 50 y 750 ± 50 μmol/m^2/s, respectivamente. Los promedios se obtuvieron con los sensores cuánticos acoplados al equipo portátil Li-6400 (LI-COR Biosciences Inc., Nebraska, Estados Unidos).

Después de una aclimatación de 8 días a la intensidad lumínica impuesta, se inició la aplicación de los tratamientos salinos que consistieron en 0, 30, 60, 90 y 120 mM de NaCl, es decir, diariamente se incrementó en 30 mM de NaCl hasta alcanzar la concentración final de cada tratamiento. Siete días después de alcanzar la última concentración (120 mM), se realizaron las evaluaciones de intercambio gaseoso y los parámetros fotoquímicos, entre las 07:00 y 10:00 h. En cada planta se seleccionó una hoja trifoliada completamente expandida y sin señales de senescencia, en que se demarcó un área de 8 cm^2 para obtener los datos consecutivamente en esta misma zona foliar.

La tasa de fotosíntesis (A), la conductividad estomática (gs) y la concentración intercelular de CO_2 (Ci) en el mesófilo, se obtuvieron por medio de un analizador de gases infrarrojo LI-6400 (LI-COR Biosciences Inc.). El equipo posee fuente de luz azul/roja modelo LI-6400-02B (LI-COR), la cual se utilizó para proporcionar luz artificial (1000 μmol/m^2/s) en todos los tratamientos. Las medidas fueron hechas en concentración de CO_2, temperatura y vapor de H_2O del ambiente del invernadero.

Las medidas de fluorescencia de clorofila *a* se obtuvieron utilizando el fluorímetro portátil modulado MINI-PAN (Walz, Effeltrich, Alemania). La eficiencia cuántica potencial del FSII (Kitajima y Butler, 1975) se calculó después de 30 minutos de adaptación en la oscuridad, mediante la razón $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$, donde F_0 es la fluorescencia mínima, excitada por luz roja modulada de baja intensidad (0,03 μmol/m^2/s) y F_m la fluorescencia máxima obtenida por la aplicación de un pulso de 0,8 segundos de luz actínica saturante (> 6000 μmol/m^2/s). La eficiencia cuántica efectiva del FSII (Genty *et al*., 1989) se determinó por medio de la sobreposición de un pulso de saturación en hojas previamente adaptadas a la luz ambiente y se calculó como $\Delta F/F_m' = (F_m' - F)/F_m'$, en que F es el rendimiento de fluorescencia antes del pulso de saturación y F_m' es un rendimiento de fluorescencia máxima durante los pulsos de saturación. El coeficiente de extinción no-fotoquímica de Stern-Volmer se calculó como $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$ (Bilger y Björkman, 1990).

El potencial osmótico (ψ_s) de cada tratamiento se determinó en 10 g de muestras de hojas que se mantuvieron a -12 °C en el congelador por un tiempo mínimo de 24 horas. Posteriormente, se extrajo el jugo celular y centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos. En una alícuota de 2 mL de sobrenadante, se determinó el punto de congelamiento utilizando microosmómetro (Precision Osmette,

modelo 2007). El ψ_s se calculó a partir de la fórmula de Van't Hoff (Milburn, 1979).

El contenido de sodio en las hojas se determinó en 10 mg de tejido foliar secados y molidos. El material se sometió a predigestión durante 12 horas con solución de ácidos nítrico y perclórico en la razón de 3:1. Después de este tiempo, los tubos con la solución y el material vegetal se colocaron en bloque digestor, expuesto a aumentos graduales de temperatura hasta alcanzar 150 °C. Cuando el extracto se tornó incoloro se adicionaron 23 mL de agua destilada y se determinó el contenido de sodio por medio de fotometría de emisión de llama (Miyazawa *et al.*, 1984).

El contenido de clorofila *a* se midió utilizando el protocolo descrito por Welburn (1994). La extracción de los pigmentos se realizó mediante una solución compuesta de dimetilsulfóxido (DMSO) y $CaCO_3$. Después de 4 horas de agitación y filtración, se tomó una alícuota de 7 mL de la mezcla y se depositó en un frasco cubierto con papel aluminio. En los frascos se depositaron tres discos foliares de 5 mm de diámetro de cada ecotipo y de cada tratamiento. Después de 24 horas, se estimaron las concentraciones del pigmento a partir de espectrofotometría en las longitudes de 480, 649 y 670 nm.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Statistica (Statsoft Inc.). Para cumplir con los supuestos de análisis de varianza, los datos obtenidos en los parámetros de conductividad estomática (g_s) y concentración intercelular de CO_2 (Ci) en el mesófilo se transformaron aplicando el log en base diez. Las interacciones significativas con el factor concentración se sometieron a análisis de regresión. Los modelos de regresión fueron escogidos de acuerdo con el coeficiente de correlación entre los valores observados y los valores estimados de *y* ($r\hat{y}y$) y su explicación fisiológica. Para las demás fuentes de variación significativas se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad.

RESULTADOS

Los factores independientes: intensidad lumínica, concentración de NaCl y ecotipos afectaron significativamente la concentración de Na^+ en las hojas y su potencial osmótico (ψ_s).

Se observó incremento significativo de sodio (Na^+) en las hojas a medida que aumentaba la concentración de NaCl en la solución nutritiva. Las plantas tratadas con sombra acumularon sodio en menor proporción en relación con las plantas expuestas. Los ecotipos mostraron diferencias entre sí, dado que las plantas de cargamanto con sombra tuvieron mayor contenido de Na^+ comparadas con las carioca con sombra, en las concentraciones de 30, 60 y 90 mM de NaCl (figura 1).

El potencial osmótico (ψ_s) disminuyó con el tratamiento salino, en especial en las plantas expuestas y en menor proporción en las plantas con sombra de los dos ecotipos. Se presentaron diferencias entre ecotipos en las concentraciones de 60 y 90 mM NaCl; el cargamanto expuesto y con sombra mostró los valores menores de ψ_s comparado con el carioca expuesto y con sombra (figura 1).

Las plantas de fríjol carioca expuestas presentaron senescencia prematura en 120 mM de NaCl, lo que no permitió realizar el análisis de estas variables en dicha concentración.

La salinidad afectó significativamente la conductividad estomática (gs), la cual se redujo a medida que incrementó el estrés salino en el medio. Se encontraron diferencias significativas entre los ecotipos evaluados. Los valores mayores de gs se observaron en el ecotipo cargamanto, en especial en las plantas con sombra y sin NaCl en el medio (figura 2).

La interacción entre la intensidad lumínica y la salinidad tuvo un efecto significativo en la tasa fotosintética (A) y la concentración intercelular de CO_2 (Ci) en el mesófilo. Así mismo, el factor independiente ecotipos presentó significancia ($P < 0,05$). En las plantas expuestas se observó una reducción drástica a medida que incrementó la concentración de NaCl, en comparación con las plantas con sombra en las que la disminución fue moderada. Las plantas sin NaCl presentaron diferencias entre expuestas y con sombra de 6,8 y 10,86 µmol/m²/s para el cargamanto y el carioca, respectivamente. A partir de la concentración de 60 mM, las plantas con sombra mostraron mayor fotosíntesis que las expuestas; en la concentración de 120 mM de NaCl se observaron diferencias entre las plantas con sombra y las expuestas de 3,5 µmol/m²/s para cargamanto y 2,51 µmol/m²/s para carioca. El cargamanto expuesto y con sombra, en las concentraciones de 0 y 30 mM, presentó tasas fotosintéticas mayores que las de carioca (figura 2).

En las plantas expuesta de los dos ecotipos se observó disminución de Ci hasta la concentración de 60 mM, posteriormente aumentó hasta alcanzar valores semejantes a los encontrados en los tratamientos sin NaCl, en la concentración de 120 mM. En las plantas con sombra de los dos ecotipos, la Ci disminuyó a medida que incrementa el NaCl en el medio. Los valores mayores de Ci se encontraron en el cargamanto con sombra y sin NaCl (figura 2).

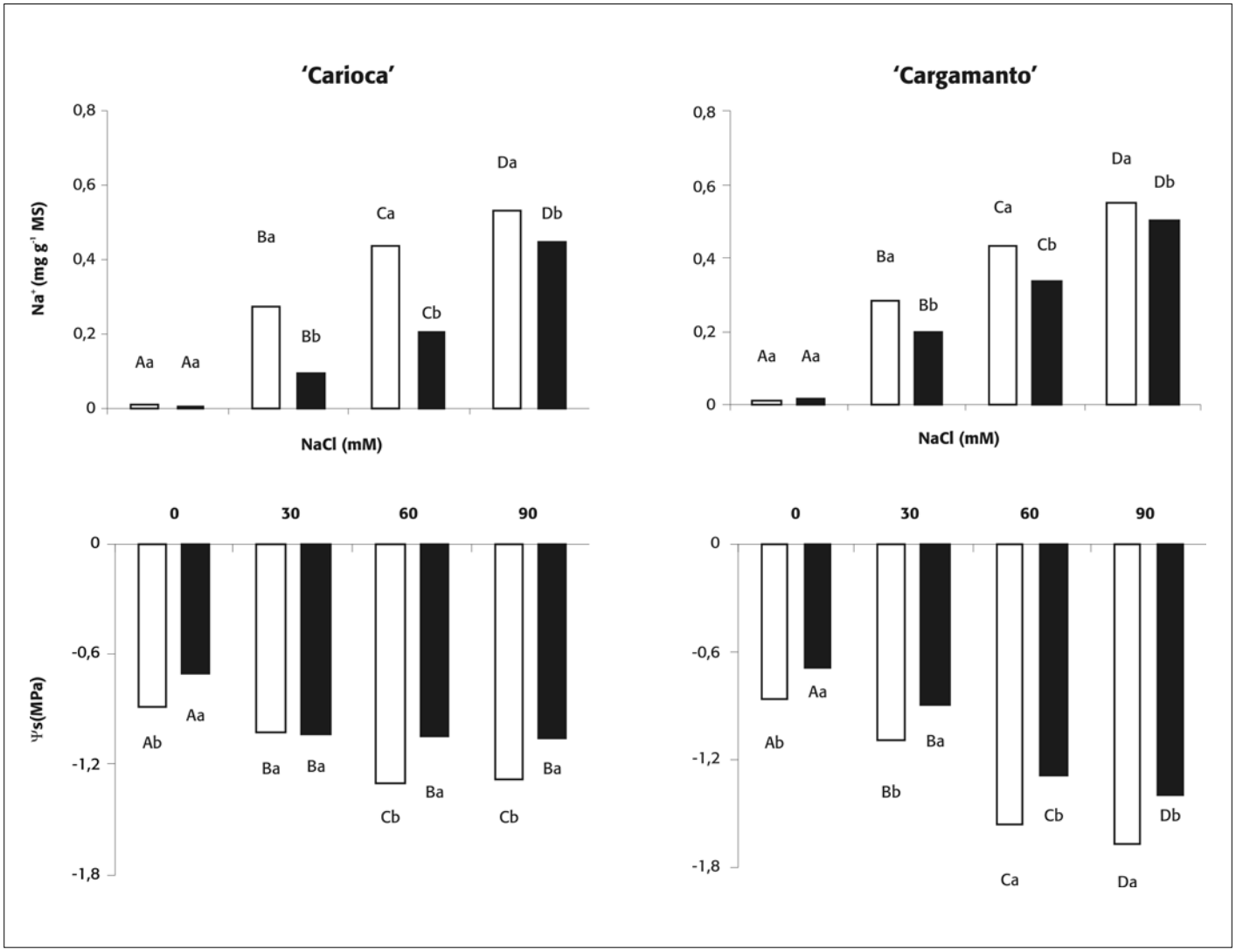

Figura 1. Contenido de sodio (mg Na/g MS) y potencial osmótico (ψ_s megapascal) en *Phaseolus vulgaris* cv. carioca y cv. cargamanto, sometidos a estrés salino y en diferentes intensidades lumínicas: plantas expuestas (□) y en sombra (■). Los valores medios señalados con la misma letra no presentan diferencias entre tratamientos según la prueba de Tukey ($p > 0,05$). Las letras en mayúscula hacen referencia a las concentraciones de NaCl y las minúsculas a la intensidad lumínica

La eficiencia cuántica potencial (F_v/F_m) presentó diferencias significativas en el factor ecotipos; el ecotipo carioca a una concentración de 120 mM de NaCl tuvo valores menores a 0,8 (figura 3).

La eficiencia cuántica efectiva ($\Delta F/F_m'$) de las plantas estresadas con salinidad y expuestas varía en relación con el ecotipo que se esté evaluado. El carioca expuesto presentó reducciones de $\Delta F/F_m'$ comprometedoras, a partir de incremento en los niveles de NaCl en el medio; a diferencia del cargamanto que sólo mostró reducciones a partir de la concentración 60 mM. Las plantas con sombra y estresadas con salinidad presentaron valores menores de $\Delta F/F_m'$ comparados con las plantas expuestas en los dos ecotipos estudiados (figura 3). El coeficiente de extinción no fotoquímica (NPQ) presentó diferencias con una $P > 0,05$ en el factor concentración NaCl; a medida que la concentración de NaCl en el medio fue mayor, se registró un aumento de NPQ. Las plantas con sombra presentaron aumentos graduales, comparadas con las plantas expuestas, en las cuales los incrementos fueron más contundentes a partir de la concentración de 60 mM (figura 3).

En el contenido de clorofila *a*, se presentaron efectos significativos en la interacción de los factores salinidad e intensidad lumínica, y en el factor independiente ecotipo. En las plantas de carioca expuestas se redujo significativamente el contenido de clorofila *a* en las concentraciones de 90 y 120 mM y en el cargamanto expuesto, la reducción se presentó en 120 mM de NaCl. A medida que se incrementó el NaCl en el medio en las plantas con sombra no se presentaron reducciones del contenido de clorofila *a* (figura 4).

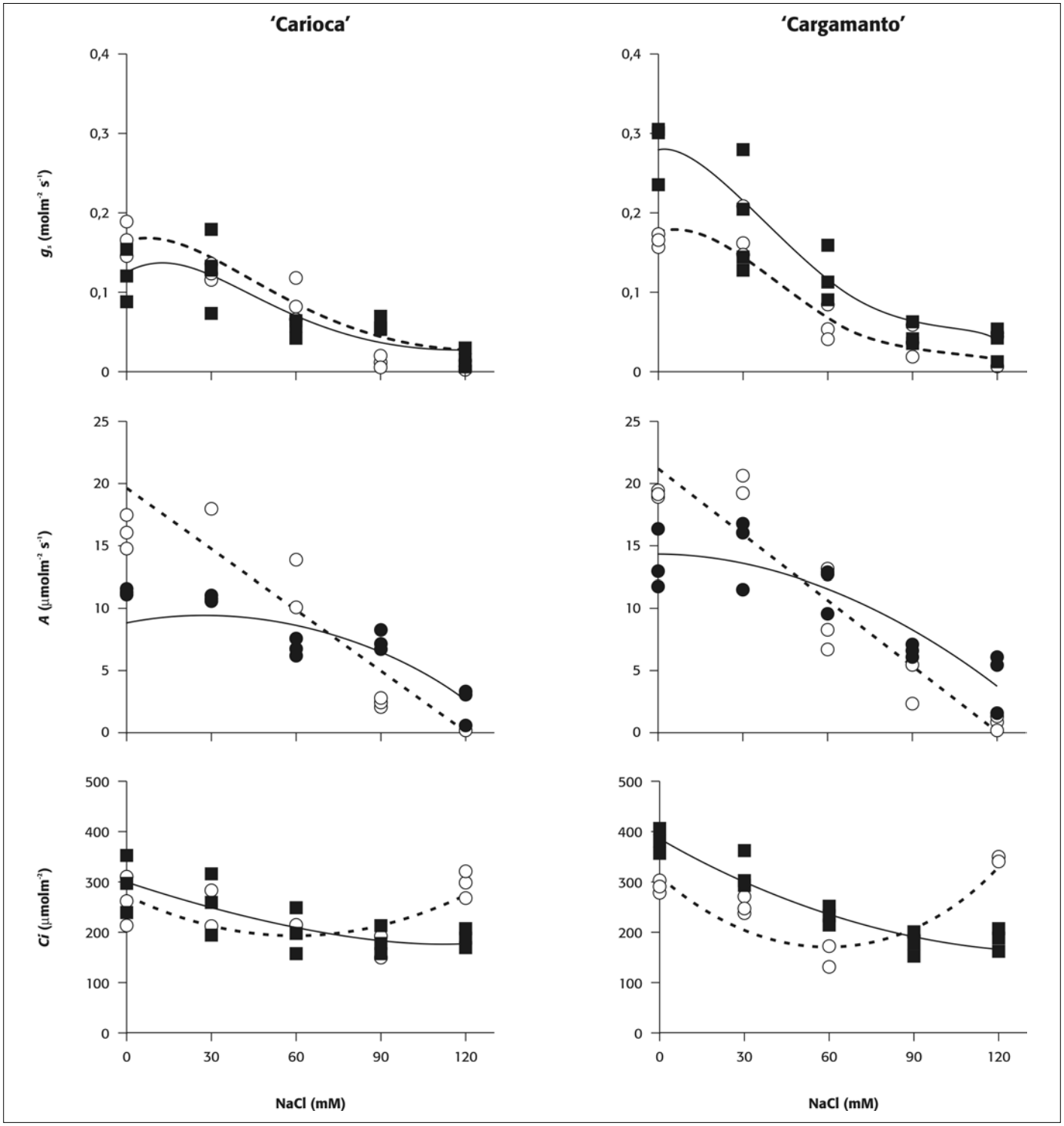

Figura 2. Conductividad estomática (g_s) tasa fotosintética (A) y concentración de CO_2 intercelular (Ci) en *Phaseolus vulgaris* cv. carioca y cv. cargamanto sometidos a estrés salino y diferentes intensidades lumínicas: plantas expuestas (--○--) y en sombra (—■—)

DISCUSIÓN

Efectos de la sombra

La sombra es una forma de estrés que limita la fotosíntesis y el crecimiento de las plantas (Valladares *et al*., 2004). Plantas de cargamanto con sombra presentaron mayor conductividad estomática (gs) y tasa fotosintética (A) comparadas con las carioca. El desempeño fotosintético superior del ecotipo andino en condiciones de sombra posiblemente se relacione con la eficiencia cuántica efectiva, que para el cargamanto presentó diferencias favorables comparándolo con el carioca. Esta diferencia se puede atribuir al proceso de acoplamiento morfológico

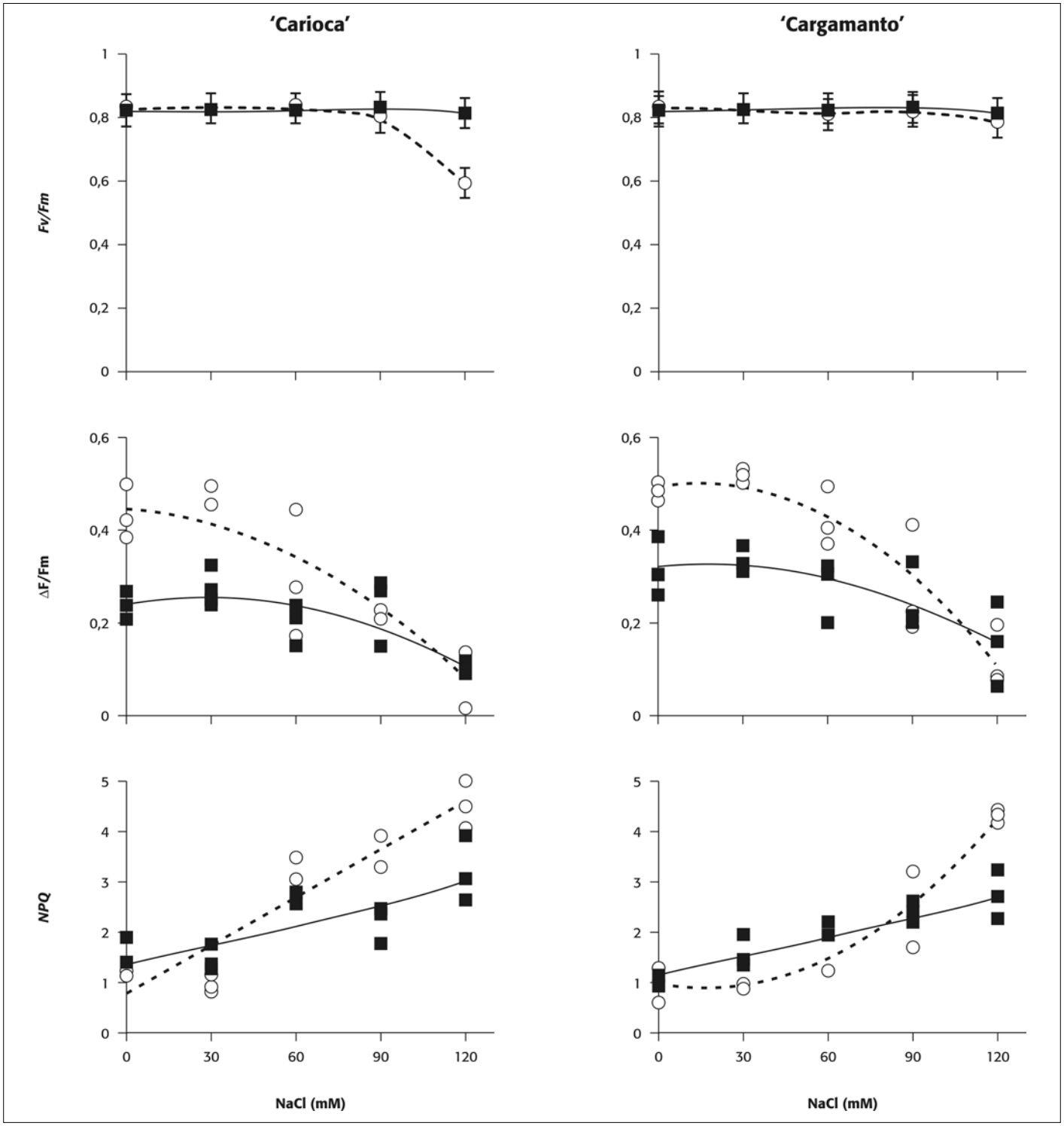

Figura 3. Eficiencia cuántica potencial (Fv/Fm), datos originales. Eficiencia cuántica efectiva ($\Delta F/F_m'$) y coeficiente de extinción no fotoquímica (NPQ) en *Phaseolus vulgaris* cv. carioca y cv. cargamanto, sometidos a estrés salino y diferentes intensidades lumínicas: plantas expuestas (--o--) y en sombra (–■–)

que las plantas efectúan cuando crecen en intensidades lumínicas bajas que, por lo general, se manifiestan en un área foliar mayor, característica observada en el fríjol cargamanto. El incremento del área foliar es una estrategia para aumentar la superficie fotosintéticamente activa y así mejorar la eficiencia en los procesos de captación de energía, con el fin de garantizar la producción con intensidades lumínicas bajas (Valladares y Niinemets, 2008). En estudios realizados con diferentes cultivares de fríjol sembrados a 80%, 60%, 45% de reducción de la PAR también se observó lo anterior y permitieron concluir que hay una relación proporcional entre la densidad de la sombra, el incremento del área foliar y la ganancia de carbono (Hadi *et al*., 2006).

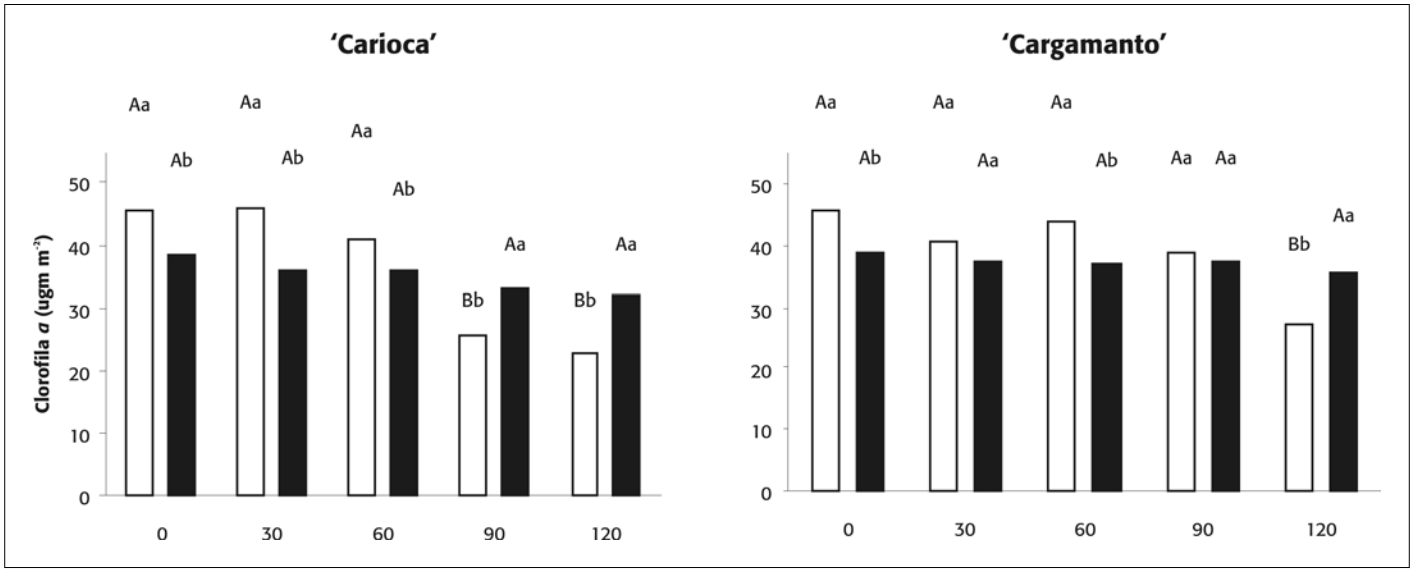

Figura 4. Figura 4. Contenido de clorofila a (ugm/m^2) en *Phaseolus vulgaris* cv. carioca y cv. cargamanto, sometidos a estrés salino y en diferentes regímenes de luz: plantas expuestas (□) y en sombra (■). Los valores medios señalados con la misma letra no presentan diferencias entre tratamientos según la prueba de Tukey ($p > 0,05$). Las letras en mayúscula hacen referencia a las concentraciones de NaCl y las minúsculas a la intensidad lumínica

La formación de hojas delgadas parece ser una característica favorable para las plantas que crecen en ambientes sombreados, una vez que permiten mayor capacidad de difusión y contenido de CO_2 para el interior del mesófilo (Syverten *et al*., 1995). En el cargamanto se observó que la concentración intercelular de CO_2 (Ci) en el mesófilo presentó valores mayores que en el carioca, lo que favoreció la tasa fotosintética (A) en condiciones de sombra. Por lo general, las plantas con mejor desempeño fotosintético en intensidades lumínicas bajas alcanzan mayor ganancia de carbono, posiblemente porque sus hojas tienen menor masa seca por unidad de área foliar; a su vez, presentan mayor fracción de hojas por masa seca de planta, lo que da como resultado mayor razón de área foliar (Valladares y Niinemets, 2008).

En intensidades lumínicas bajas el fríjol cargamanto exhibe una marcada capacidad de ajuste morfológico y fisiológico en relación con el carioca; lo que puede relacionarse con una respuesta plástica a la luz que este tipo de fríjol andino puede tener, posiblemente porque proviene de un ambiente donde la intensidad lumínica fluctúa frecuentemente. Estudios realizados con diferentes variedades de fríjol común concluyeron que los genotipos más tolerantes a un factor estresante son los que presentan mayor plasticidad bioquímica y fisiológica en términos de conductividad estomática, tasa fotosintética y síntesis de ácido abscísico cuando crecen en condiciones de estrés abiótico (Lizana *et al*., 2006).

Efectos de la salinidad en las plantas expuestas

La salinidad altera las relaciones hídricas y el intercambio gaseoso de especies cultivadas y silvestres del género *Phaseolus* (Bayuelo-Jiménez *et al*., 2003). La reducción simultánea del potencial osmótico, la conductividad estomática (gs) y la concentración intercelular de CO_2 (Ci) en el mesófilo hasta 60 mM de NaCl reflejaron el efecto inhibitorio sobre la tasa fotosintética (*A*), atribuido a un componente estomático o un mecanismo no específico del estrés salino.

Las alteraciones hídricas se manifestaron en mayor proporción en el fríjol cargamanto que en el carioca. La reducción del ψ_s está fuertemente relacionada con la acumulación de moléculas osmóticamente activas en las células vegetales (Steduto *et al*., 2000). Las plantas activan los mecanismos de ajuste osmótico para contribuir a la absorción del agua y mantener un estatus hídrico favorable (Tezara *et al*., 2003; Backhaeusen *et al*., 2005), por lo tanto, se puede considerar que el fríjol cargamanto presentó características aceptables de ajuste osmótico en comparación con el carioca.

Las estrategias de ajuste osmótico en el fríjol cargamanto no fueron lo suficientemente efectivas para sobrellevar los efectos ocasionados por la salinidad. El déficit hídrico limitó la apertura estomática en los dos ecotipos (Brugnoli y Bjorkman, 1992; Steduto *et al*., 2000). La reducción de la conductividad estomática se considera una respuesta protectora contra el déficit hídrico, ya que permite economizar agua y mejorar la eficiencia de su uso por parte de la planta (Hasegawa *et al*., 2000; Chaves *et al*., 2008). El cierre parcial del estoma es una respuesta a la reducción de la turgencia foliar y a las señales bioquímicas generadas en las raíces, fenómenos atribuidos a la sequía o a la salinidad (Chaves *et al*., 2008). Sin embargo, una disminución en la gs promueve simultáneamente una reducción en la

fotosíntesis (Brugnoli y Lauteri, 1991), lo que también se observó en los dos ecotipos evaluados.

En los dos ecotipos, el estrés salino aumentó el contenido de sodio (Na^+) en las hojas y en concentraciones superiores a 60 mM de NaCl, y en la concentración intercelular de CO_2 (Ci) en el mesófilo, sin presentar actividad fotosintética. Lo anterior evidencia la toxicidad iónica o mecanismo específico del estrés salino. Dicha toxicidad puede alterar el equilibrio iónico de los cloroplastos, lo que influye en la actividad de enzimas fotosintéticas como la rubisco (ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa oxigenasa), como se observa en trabajos realizados con plantas de trigo (Sharma y Hall, 1991) y sorgo (Masojidek y Hall, 1992) creciendo en condiciones de estrés salino.

El desempeño fotosintético depende de características como la actividad de la rubisco, el contenido de clorofila *a*, y la eficiencia de los fotosistemas I y II (Chen *et al*., 1999). El contenido de clorofila *a* disminuyó significativamente a los 120 mM en el fríjol cargamanto y a partir de 90 mM de NaCl en el carioca. Se indica que la salinidad afecta el contenido de clorofila en las hojas a través de la inhibición del ácido Δ5-aminolevulínico (ALA) compuesto fundamental para la síntesis del pigmento. La inhibición de este compuesto está fuertemente relacionada con los efectos directos (específicos) de la salinidad, como fue expuesto por Santos (2004) en su trabajo sobre el crecimiento del girasol en condiciones salinas. Por lo tanto, se puede suponer que se afectó en mayor medida la síntesis de pigmentos fotosintéticos en el ecotipo mesoamericano que en el andino.

La eficiencia cuántica efectiva ($\Delta F/F_m'$) presentó la misma tendencia de reducción que el contenido de clorofila. A partir de la concentración de 60 mM, el cultivar carioca mostró menor eficiencia que el cargamanto de la luz absorbida por el fotosistema II (PSII) que es usada para la fotoquímica. Posiblemente, esta característica se atribuya a un estado alto de reducción del primer aceptor de electrones (el pool de QA) que conlleva a una variación en la tasa de transporte de electrones (Baker y Rosenqvist, 2004).

La eficiencia cuántica potencial del FSII (Fv/Fm) solamente presentó reducciones en la concentración letal de 120 mM en el fríjol carioca, los demás tratamientos no presentaron variación de Fv/Fm en comparación con el control. Estos últimos resultados fueron semejantes a los encontrados en sorgo y cebada (Sharma y Hall, 1991; Netondo *et al*., 2004), trigo (Mishra *et al*., 1991), algodón (Brugnoli y Bjorkman 1992; Meloni *et al*., 2003) y *Lycium nodosum* (Tezara *et al*., 2003) y, posiblemente, se encuentren relacionados con la eficiencia de los mecanismos fotoprotectores que puede modular la probabilidad de fotodaño mediante ajustes morfológicos, cambios en el tamaño de la antena y activación de rutas alternas de transporte de electrones (Niyogi, 1999). Otro mecanismo de fotoprotección es mediante la disipación térmica de la energía de excitación. El incremento del coeficiente de extinción no-fotoquímico (NPQ) fue considerable en la medida que incrementaba el NaCl en el medio. Por lo tanto, en concentraciones > 60 mM NaCl para plantas de fríjol, en especial para el tipo cargamanto, se puede sugerir que la regulación metabólica en relación con los componentes y procesos que conforman la fotosíntesis, se convierte en el factor más importante para la planta en comparación con el cierre estomático (Tezara *et al*., 2003).

Efectos de la salinidad en las plantas con sombra en comparación con las expuestas

La sombra, aunque limita la fotosíntesis y el crecimiento de las plantas, puede ser beneficiosa en ecosistemas áridos al reducir el sobrecalentamiento, la transpiración excesiva y la fotoinhibición (Valladares *et al*., 2004).

Las plantas cultivadas con sombra artificial y estresadas con NaCl presentaron alteraciones en el potencial osmótico y en el contenido de sodio en las hojas, pero la proporción de las alteraciones fue de magnitud menor que en las plantas expuestas a las intensidades lumínicas del invernadero. También se presentó una reducción moderada en gs y Ci a medida que incrementaba la salinidad en el medio, lo que se refleja en la fotosíntesis. Las tasas de *A* medidas en las concentraciones superiores a 60 mM de NaCl son menores que las de control de NaCl, pero suficientes para culminar la etapa vegetativa y continuar con la etapa reproductiva, hasta la producción de vainas y semillas.

La disminución moderada de *A* en las plantas con sombra acompañada por las reducciones leves en ($\Delta F/F_m'$) y el hecho de no presentar alteración del contenido de clorofila, cuando son comparadas con el tratamiento control, a medida que incrementó el contenido de NaCl en el medio, permiten sugerir que los mecanismos específicos del estrés salino dependerán del ambiente que rodea la planta, en especial la intensidad de luz y la humedad. Estos resultados también se obtuvieron en trabajos realizados con papa creciendo en condiciones de estrés salino (Backhausen *et al*., 2005). En ambientes naturales, el incremento de la radiación usualmente está acompañado de aumentos en la temperatura del aire, lo que conlleva al incremento de la temperatura foliar; estas características, su vez, incrementan la demanda de transpiración (Holmgren, 2000). El aumento de la demanda evaporativa puede favorecer la absorción de iones y su traslocación a través de la corriente transpiratoria intensificando los efectos

específicos de la salinidad. Por lo anterior, sería necesario corroborar estos resultados en condiciones de campo, donde el suelo, la humedad, la temperatura y la radiación influirán en la respuesta de las plantas al estrés salino.

El fríjol cargamanto presentó alteraciones en el potencial osmótico y aumento en el contenido de sodio en las hojas en proporción mayor que el carioca pero, contrariamente, no mostró diferencias cuando se analizaron las variables de intercambio gaseoso, fluorescencia de la clorofila *a* y contenido de pigmentos fotosintéticos. Por lo general, la salinidad y la radiación afectan el *Phaseolus* en el número de hojas, área foliar y el peso seco de las hojas, tallo y raíz (Hadi *et al*., 2006; Bahena *et al*., 2008); por lo tanto, se podría indicar que el fríjol andino se ajustó a las condiciones de interacción de factores abióticos mejor que el fríjol mesoamericano.

CONCLUSIONES

El ecotipo andino de fríjol presentó mayor capacidad de ajuste a diferentes factores y estreses abióticos que el ecotipo mesoamericano, lo que puede indicar una estrecha relación entre el centro de origen y la plasticidad a la luz que posee cada tipo de fríjol al ambiente que lo rodea.

El estrés salino repercute en el proceso de fotosíntesis de las plantas de fríjol común, pero la influencia de los mecanismos específicos (directos) o no específicos (estomáticos) de la salinidad sobre el desempeño fotosintético dependerá de las relaciones existentes entre la absorción de agua y nutrientes y la intensidad lumínica que rodea la planta.

El ecotipo andino de fríjol mantuvo características fotoquímicas aceptables en comparación con el ecotipo mesoamericano en condiciones intensas de estrés salino; por lo tanto, el primero presenta mejor regulación metabólica de la fotosíntesis que el segundo.

La interacción de la sombra con la salinidad generó respuestas únicas y diferenciales en comparación con las alteraciones producidas independientemente por cada condición de estrés.

REFERENCIAS

Arias JH, Jaramillo M, Renjifo T. 2007. Manual técnico: Buenas prácticas agrícolas, en la producción de fríjol voluble. En: Corpoica, Gobernación de Antioquia, FAO. Medellín, Colombia p. 49-81.

Bahena LB, Macías LR, López RG, Bayuelo-Jiménez JS. 2008. Crecimiento y respuesta fisiológica de *Phaseolus* spp. en condiciones de salinidad. Revista Fitotecnia Mexicana 31(3):213-223.

Backhausen JE, Klein M, Klocke M, Jung S, Scheibe R. 2005. Salt tolerance of potato (*Solanum tuberosum* L. var. Desirée) plant depends on light intensity and air humidity. Plant Science 169:229-237.

Baker NR, Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany 55(403):1607-1621.

Bayuelo-Jiménez JS, Debouck DG, Lynch JP. 2003. Growth, gas exchange, water relations, and ion composition of *Phasheolus* species under saline conditions. Field Crops Research 80: 207-222.

Bayuelo-Jiménez JS, Debouck DG, Lynch JP. 2002. Salinity tolerance in *Phaseolus* species during early vegetative growth. Crop Science 42:2184-2192.

Bilger W, Schreiber U, Bock M. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in field. Oecologia 102:425-432.

Borem A. 2005. Melhoramento de espécies cultivadas. Editora UFV, Viçosa Minas Gerais, 301-391 p.

Brugnoli E, Bjorkman O. 1992. Growth of cotton under continuous salinity stress: influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. Planta 183:335-347.

Brugnoli E, Lauteri M. (1991). Effect of the salinity on the stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt tolerant (*Glossypium hirsutum* L.) sat-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C_3 non halophytes. Plant Physiology 95:628-635.

Cardona C, Flor CA, Morales F, Pastor MA. 1995. Problemas de campo en cultivos de fríjol en el trópico. En Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia p. 1-5.

Chacón SMI, Pickersgill B, Debouck DG. 2005. Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. Theoretical and Applied Genetics 110(3):432-444.

Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C. 2008. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany, Rewiew: 1-10.

Chen K, Hu G, Keutgen K. 1999. Effects of NaCl and CO_2 enrichment on pepino (*Solanum muricatum* Ait) II. Leaf photosynthetic properties and gas exchange. Scientia Horticulturae 81: 43-56.

Genty B, Briantais JM, Baker NR. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta 990: 87-92.

Hadi H, Ghassemi-Golezani K, Rahimzadeh FK. 2006. Response of common bean (*Phaseolus vulgaris*) to different levels of shade. Journal of Agronomy 5(4):595-599.

Hasegawa PM. Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ. 2002. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology Vol. 51: 463-499.

Hernández JA, Olmos E, Corpas FJ, Sevilla F, Rio LA. 1995. Salt induced oxidative stress in chloroplast of pea plant. Plant Science 105:151-167.

Holmgren M. 2000**.** Combined effects of shade and drought on tulip poplar seedlings: trade-off in tolerance or facilitation? Oikos 90(1):67-78.

Kitajima M, Butler WL. 1975. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. Biochim Biophys Acta 376:105-115.

Kumar N, Vyas D, Kumar S. 2007. Plants at high altitude exhibit higher component of alternative respiration. Journal of Plant Physiology 164:31-38.

Lizana C, Wentworth M, Martinez JP, Villegas D, Meneses R, Murchie EH, Patenes C, Lercari B, Verniere P, Horton P, Pinto M. 2006. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress. Journal of Experimental Botany (57) 3:685-697.

Long S, Humphries S, Falkowski P. 1994. Photoinibition of Photosynthesis in nature Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 19:1083-1090.

Masojidek J, Hall DO. 1992. Salinity and drought stress are amplified by high irradiance in sorghum. Photosynthetica 27:1-2.

Meloni DA, Oliva MA, Martinez CA, Cambraia J. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Environmental and Experimental Botany 49:69-76.

Milburn JA 1979. Water flow in plant. In: Longman London and New York (eds.). Department of Botany, Unversity of Glasgow, 205 p.

Mittler R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends in Plants Science 11: 15-19.

Mishra SJ, Subrahmanyam D, Singhal GS. 1991. Interrelationship between salt and light stress on primary processes of photosynthesis. Journal Plant Physiology 138:92:96.

Miyazawa M, Pavan MA, Bloch M. 1984. Avaliação de métodos com expuesta sem digestão para extração de elementos de tecidos de plantas. Ciência expuesta Cultura 36(11):1953-1958.

Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment 25: 239-250.

Netondo GW, Onyango JC, Beck E. 2004. Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. Crop Science 44:806-811.

Niyogi KK, 1999. Photoprotection revisited: Genetic and molecular approaches. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50:333-359.

Parida AK, Das AB. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60:324-349.

Parida AK, Das AB, Mittra, B. 2003. Effects of NaCl stress on the structure, pigment complex composition, and photosynthetic activity of mangrove *Bruguiera parviflora* chloroplast. Photosynthetica 41(2):191-200.

Rizhsky L, Liang H, Mittler R. 2002. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. Plant Physiology 130: 1313-1322

Ruiz H. 1997. Relações molares de macronutrientes em tecido vegetal como base para a formulação de soluções nutritivas. Revista Ceres, 44:533-546.

Santos CV. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. Scientia Horticulturae 103:93-99.

Steduto P, Albrizio R, Giorio P, Sorrentino G. 2000. Gas-exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity. Environmental and Experimental Botany 44:243–255.

Sudhir P, Murthy SDS. 2004. Effects of salt on basic process of photosynthesis. Photosynthetica 42(4):481-486.

Sharma PK, Hall DO. 1991. Interaction of salt stress and fotoinhibition on photosynthesis in Barley and Sorghum. Journal of Plant Physiology 138:614-619.

Singh SP, Gepts P, Debouck DG. 1991. Races of Common Bean (*Phaseolus vulgaris,* Fabaceae). Economic Botany 45(3): 379-396.

Syveersten JP, Lloyd J, Mcconchie C, Kriedemann PE, Farquahar G. 1995. On the relationship between leaf anatomy and CO_2 diffusion through the mesophyll of hypostomatous leaves. Plant, Cell and Environment 18:149-157.

Tezara W, Martínez D, Rengifo E, Herrera A. 2003. Photosynthetic responses of the tropical Spiny Shrub *Lycium nodosum* (Solanaceae) to drought, soil salinity and saline spray. Annals of Botany 92:1-9.

Valladares F. Aranda I, Sánchez-Gómez D. 2004. La luz como factor ecológico y evolutivo para las plantas y su interacción con el agua. En: Valladares F. Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A. Madrid p 335-369.

Valladares F, Niinemets Ü. 2008. Shade Tolerance, a Key Plant Feature of Complex Nature and Consequences. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 39: 237-257.

Wellburn A. 1994. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology 144(3):307-313.